



Europäisches Patentamt
Eur pean Patent Office
Office européen des brevets

⑪ Veröffentlichungsnummer:

0 158 987
A2

⑫

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑲ Anmeldenummer: 85104446.1

⑤① Int. Cl.⁴: **C 07 K 7/20**
A 61 K 37/02

⑳ Anmeldetag: 12.04.85

⑳ Priorität: 18.04.84 DE 3414595

④③ Veröffentlichungstag der Anmeldung:
23.10.85 Patentblatt 85/43

⑥④ Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

⑦① Anmelder: HOECHST AKTIENGESellschaft
Postfach 80 03 20
D-6230 Frankfurt am Main 80(DE)

⑦② Erfinder: König, Wolfgang, Dr.
Eppsteiner Strasse 25
D-66238 Hofheim am Taunus(DE)

⑥⑤ Verwendung von Gonadoliberin und Gonadoliberinagonisten zur Behandlung klimakterischer Beschwerden.

⑥⑦ Die Erfindung betrifft die Verwendung von Gonadoliberin und Gonadoliberinagonisten zur Behandlung klimakterischer Beschwerden und pathologischen Zuständen, die die durch einen erhöhten Parathormonspiegel gekennzeichnet sind, sowie diese Verbindung(en) enthaltende Zubereitungen.

EP 0 158 987 A2

Verwendung von Gonadoliberin und Gonadoliberinagonisten
zur Behandlung klimakterischer Beschwerden

Es wurde gefunden, daß Gonadoliberin und dessen agonistisch wirkenden Analoga überraschenderweise in geringer Dosierung sowohl bei klimakterischen Beschwerden in der Prämenopause als auch in der Postmenopause einen positiven Effekt ausüben.

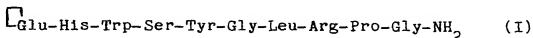
Die Erfindung betrifft daher die Verwendung von Gonadoliberin oder dessen mindestens eben so stark wirksamen agonistischen Analoga, sowie pharmazeutische Zubereitungen, die gekennzeichnet sind durch einen pharmakologisch wirksamen Gehalt dieser Verbindung(en) in einem pharmazeutisch unbedenklichen Träger zur Behandlung klimakterischer Beschwerden und pathologischen Zuständen, die durch einen zu hohen Parathormonspiegel gekennzeichnet sind.

Bei Osteoporose findet man im Knochenmark erhöhte Parathormon-Spiegel (Klin. Wochenschr. 62, 129-132, 1984); Parathormon wirkt knochenauflösend. Bei jungen weiblichen Ratten mit hohem Parathormon-Spiegel erniedrigten kleine Dosen des Gonadoliberinagonisten Buserelin Plasma-Parathormon, obwohl ein durch Kalzium-Infusion erniedrigter Parathormon-Spiegel durch ähnlich dosiertes Buserelin erhöht wird (vgl. deutsche Patentanmeldung P 33 32 329.1). Möglicherweise spielt diese Parathormon-regulierende Wirkung des Buserelins eine Rolle für die Behandlung von Knochenschmerzen und der Osteoporose.

Beschwerden, die mit Gonadoliberin oder dessen agonistischen Analoga behandelt werden können, sind Zyklusstörungen (unregelmäßige Regelblutungen) in der Prämenopause, die postklimakterischen Beschwerden, wie z.B. Hitzewallungen, Kälteschauer, Schweißausbrüche, Schwindel, Herzklopfen, Schlaflosigkeit, Angstgefühle, Depressionen, Kopfschmerzen,

Knochenschmerzen, die Osteoporose und die Niereninsuffizienz. Sowohl bei der Osteoporose (Klin. Wochenschr. 62 [1984] 129-132) als auch bei der Niereninsuffizienz (Akt. Endokr. Stoffw. 5 [1984] 180-186) ist der Parathormonspiegel
5 erhöht.

Gonadoliberin ist ein Dekapeptid der Formel I, das im Hypothalamus gebildet wird und in der Hypophyse die Freisetzung von Folliculotropin und Lutropin bewirkt (Biochem. Biophys.
10 Res. Commun. 43, 1971, Seite 1334).



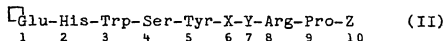
Die diagnostische Dosis von Gonadoliberin zur Freisetzung der
15 Gonadotropine (Folliculotropin und Lutropin) liegt bei einer parenteralen Applikation von 25 - 100 µg/erwachsener Mensch (Rote Liste 1983, 34002 und 24004). Die bei Kryptorchismus verwendete intranasale Dosierung bei Kindern zwischen zwei und sechs Jahren beträgt 3 mal täglich 400 µg (Rote Liste
20 1983, 49038).

Dagegen genügen bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Behandlung klimakterischer Beschwerden parenterale Gaben von nur 0,5 - 5 µg Gonadoliberin/normalgewichtige Frau (= 6 bis
25 60 ng/kg/Dosierung). Bei intranasaler Applikation werden wegen der schlechten Resorption etwa 10 - 200 µg Gonadoliberin/normalgewichtigen Frau appliziert. Im allgemeinen dosiert man am Anfang der Behandlung 2 - 3 mal täglich. Nachdem die Beschwerden nachgelassen haben, kann man sich
30 auf eine einmalige Applikation/Tag beschränken.

Die agonistische Wirkung des Gonadoliberins wird vor allem durch die Substitution von Gly-NH₂¹⁰ mit dem Ethylamin-Rest und durch den Austausch von Gly⁶ mit lipophilen D-
35 Aminosäuren verstärkt. Man kommt so zu Verbindungen, die je nach Test etwa 100 - 200 mal stärker als Gonadoliberin

- wirken (Vitamins and Hormones 38, 1980, Seite 257 - 323). Wichtig für den Austausch in Position 6 ist, daß die D-Aminosäure eine α -CH- und eine β -CH₂-Gruppe enthält (Peptides - Chemistry, Structure, Biology, Seite 883-888, Ann Arbor Science Publishers Inc Ann Arbor, Mich. 1975).
- 5 Von den "natürlichen" D-Aminosäuren bewährten sich am besten D-Trp, D-Leu und der tert.-Butylether von D-Ser. Durch die Verwendung synthetischer aromatischer D-Aminosäuren lassen sich jedoch noch höhere Aktivitäten erzielen, wie z.B. bei [D-3-(2,4,6-Trimethylphenyl)-Ala⁶]- und [D-3-(2-Naphthyl)-Ala⁶] Gonadoliberin (J. Med. Chem. 25, 1982 Seite 795 - 801).

- Infrage für die Indikation kommen alle Gonadoliberinanaloga
- 15 mit voller oder stärkerer Gonadoliberinwirkung. Geeignet sind beispielsweise folgende Analoga der Formel II:



20

in welcher bedeutet (Abkürzungen siehe Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, 4. Auflage., Bd. XV/1 und XV/2, Thieme Verlag Stuttgart):

- 25 a) Z = Gly-NH₂,
Y = Leu und
X = D-Nle, D-Nva, D-Abu, D-Phe, D-Ser, D-Met, D-Pgl,
D-Lys, D-Leu, D-Arg, D-Ser(Bu^t), D-Thr(Bu^t),
D-Cys(Bu^t), D-Lys, D-Asp, D-Asp(OBu^t), D-Glu(OBu^t),
30 D-Orn(Boc), D-Lys(Boc), D-Trp, D-Tyr,
ε-Lauryl-D-Lys oder ε-Dextran-D-Lys, D-His(Bzl)

oder

- b) Z = Gly-NH₂, NH-(C₁-C₃)-Alkyl bzw. NH-Cyclopropyl, die
35 durch OH oder F substituiert sein können,

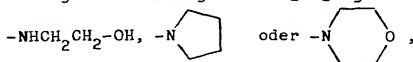
Y = Leu, Ser(Bu^t), Cys(Bu^t), Glu(OBu^t), Orn(Boc) oder
Lys(Boc) und

X = D-Ser(Bu^t), D-Cys(Bu^t), D-Asp(OBu^t), D-Glu(OBu^t),
D-Orn(Boc) oder

5 D-Lys(Boc), D-His(Bzl)

wobei Ser⁴ gegebenenfalls durch Ala oder Thr, Tyr gegeben-
enenfalls durch Phe und Arg gegebenenfalls durch Orn, Lys
oder Homoarginin ersetzt ist, oder

10 c) Z = -NHCH₃, -NH-CH₂-CH₃, -NH-CH₂CH₂CH₃,



Y = Leu und

15 X = Gly

oder

d) Z = -NHC₂H₅,

Y = Leu und

X = D-Trp, D-Leu, D-Ala, D-Ser(Bu^t), D-Tyr, D-Lys

20 oder D-His(Bzl)

oder

e) Z = Gly-NH₂ oder NH-C₂H₅,

Y = N-α-Methyl-Leu und

X = Gly

25 oder

f) Z = NH-Cyclopropyl,

Y = Leu und

X = D-Leu

oder

30 g) Z = Gly-NH₂, NH-(C₁-C₃)-Alkyl oder NH-Cyclopropyl,

Y = Ser(Bu^t), Cys(Bu^t), Asp(OBu^t), Glu(OBu^t), Orn(Boc)
oder Lys(Boc) und

X = Gly.

35 Verbindungen der Formel II sowie Verfahren zu deren Her-
stellung sind beispielsweise bekannt aus:

- COY D.H., LABRIE F., FAVARY M., COY E.J. et SCHALLY A.V. (1975) LH - releasing activity of patent LH - RH analogs in vitro BBRC 67, 576 - 582.

- Wylie Vale et al. (1976) in "Hypothalamus and endocrine functions" (F. LABRIE, J. MEITES and G. PELLETIER, eds; PLENUM Press) pages 397 - 429.

FUJINO, BBRC vol. 42, n° 3, 1972, page 863.

DE-OS 2 509 783, US-PS 3 901 872, US-PS 3 896 104, JP-PS 4 9100-081, US-PS 3 971 737, BE-PS 842 857, BE-PS 832 310, BE-PS 832 311, US-PS 4 003 884, US-PS 4 024 248, DE-OS 27 20 245 und DE-OS 24 46 005.

Als besonders geeignet haben sich beispielsweise folgende Analoga erwiesen:

- 15 [D-Ser(Bu^t)⁶] Gonadoliberin-(1-9)-nonapeptid-ethylamid (=Buserelin)
(Drugs of the Future 4, 1979, Seite 173-177, 8, 1983 S. 254),
- 20 [D-Trp⁶] Gonadoliberin (Drugs of the Future 3, 1978, 2. 645 - 646),
[D-Trp⁶] Gonadoliberin-(1-9)-nonapeptid-ethylamid (Drugs of the Future 7, 1982, Seite 637 - 642),
[D-Leu⁶] Gonadoliberin-(1-9)-nonapeptid-ethylamid (Drugs
- 25 of the Future 7, 1982, Seite 882 - 886),
[D-Ser(Bu^t)⁶, AzaGly¹⁰] Gonadoliberin (Drugs of the Future 5, 1980, Seite 191 - 192; 1983, Seite 364 - 365),
[D-Trp⁶, N-MeLeu⁷] Gonadoliberin-(1-9)-nonapeptidethylamid (Drugs of the Future 8, 1983, Seite 347 - 350),
- 30 [D-α-Aminodipinsäure-6-tert.butylester⁶] Gonadoliberin-(1-9)-nonapeptid-ethylamid (DE-OS 30 20 941) und die oben einleitend aufgezählten Analoga mit den unnatürlichen D-Aminosäuren.

Die erfindungsgemäßen Zubereitungen können intranasal oder parenteral verabreicht werden. Für eine intranasale Anwendungsform wird die Verbindung mit den dafür üblichen Zusatzstoffen wie Stabilisatoren oder inerten Verdünnungsmitteln
5 vermischt und durch übliche Methoden in geeignete Darreichungsformen gebracht, wie wäßrige, alkoholische oder ölige Suspensionen oder wäßrige, alkoholische oder ölige Lösungen. Als ölige Trägerstoffe oder Lösungsmittel kommen beispielsweise pflanzliche oder tierische Öle in Betracht, wie Sonnenblumenöl oder Lebertran.
10

Zur subkutanen oder intravenösen Applikation wird die aktive Verbindung oder deren physiologisch verträgliche Salze, gewünschtenfalls mit den dafür üblichen Substanzen wie
15 Lösungsvermittler, Emulgatoren oder weitere Hilfsstoffe in Lösung, Suspension oder Emulsion gebracht.

Als Lösungsmittel kommen z.B. in Frage: Wasser, physiologische Kochsalzlösungen oder Alkohole, z.B. Ethanol, Propan-
20 diol oder Glycerin daneben auch Zuckerlösungen wie Glukose- oder Mannitlösungen, oder auch eine Mischung aus den verschiedenen genannten Lösungsmitteln.

Die hier im einzelnen aufgezählten LH-RH-Analoga sind alle
25 hochwirksam. Sie wirken am Menschen etwa 10 mal stärker als Gonadoliberin und haben eine längere Wirkungsdauer. Sie müssen also in geringer Dosierung und nicht so oft wie Gonadoliberin dosiert werden. Gewöhnlich genügen bei parenteraler Gabe 50 bis 500 ng der o.g. Gonadoliberin-
30 agonisten/normalgewichtigen Frau (= 0,6 bis 70 ng/kg/Dosis). Bei Applikation auf die Schleimhäute (z.B. intranasale Gabe) werden 1- 20 µg Analogen/normalgewichtigen Erwachsenen (= 10 bis 300 ng/kg/Dosis) notwendig. Es kann jedoch auch notwendig werden, bei besonders stark wirksamen LH-RH-
35 Analoga, die Dosis zu erniedrigen, bzw. bei geringer wirksamen, diese zu erhöhen.

Beispiel 1 (Zubereitung zur intranasalen Anwendung):

- 4,0 g \square -Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(Bu^t)-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅-diacetat werden in 100 ml destilliertes Wasser gelöst.
- 5 Gleichzeitig löst man 31,2 g NaH₂PO₄ · 2H₂O, 66,29 g Na₂HPO₄, 25 g NaCl und 100 g Benzylalkohol in 8 l dest. Wasser und gibt 500 g Polyvinylalkohol mit einem K-Wert von ca. 90 zu. Die beiden Lösungen werden vereinigt und filtriert.

10 Beispiel 2 (Zubereitung zur intranasalen Anwendung):

- 100 g wasserfreies Lanolin und 440 g Vaseline werden zusammengeschmolzen. Zu der erkalteten Schmelze gibt man eine Suspension von 800 mg mikrofeinem \square -Glu-His-Trp-Ser-Phe-D-Glu(OBu^t)-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅-diacetat in 359,2 g flüssigem Paraffin. Zum Schluß werden 10 g Benzylalkohol dazugegeben und die Salbe homogenisiert.

Beispiel 3 (Zubereitung für Injektionen):

- 20 Man löst 2 mg \square -Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Lys(Boc)-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅-diacetat in 500 ml bidestilliertes Wasser und versetzt mit 100 ml Phosphatpuffer pH 4,5. Dann gibt man 1 g Mannit und die errechnete Menge NaCl zur Isotonie zu und
- 25 füllt mit Wasser auf 1 Liter auf. Nach Sterilfiltration wird in Ampullen zu 1 bzw. 2 ml abgefüllt und lyophilisiert.

Beispiel 4 (Zubereitung für Injektionen):

- 30 Man arbeitet nach Beispiel 3, gibt aber vor dem Auffüllen mit Wasser 2,5 g 4-Hydroxybenzoesäuremethylester zu. Nach Sterilfiltration wird in Ampullen zu 1 oder 2 ml abgefüllt.

Beispiel 5

Buserelin wird zweckmäßig intranasal in einer Dosis von 1 bis 10 µg/normalegewichtige Frau appliziert. Man dosiert
5 bis zum Verschwinden der Beschwerden einmal am Tag. Anschließend kann man die Therapie mit einer Applikation an jedem zweiten Tag fortsetzen.

Diese Therapie kann auch bei den Beschwerden des Klimakterium virile des Mannes angewendet werden.
10

Beispiel 6

Parathormon-senkende Wirkung von Buserelin (siehe Fig.)

15 4 Gruppen von je 5 weiblichen Wistar-Ratten wurden mit Placebo bzw. drei verschiedenen Dosen (1 ng/kg, 5 ng/kg, 50 ng/kg) Buserelin behandelt. Zunächst entnahm man von allen Tieren eine Blutprobe (Ausgangswert). Danach gab man
20 den Tieren eine Injektion von Buserelin in physiologischer Kochsalzlösung mit 0,25 % Haemaccel^R-Zusatz und der Placebogruppe die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung mit 0,25 % Haemaccel^R-Zusatz. Nach 90 Minuten und 240 Minuten wurden Blutproben entnommen. Das Blutserum wurde auf
25 Parathormon untersucht. Nach 90 Minuten fiel in der Verum-Gruppe der Parathormon-Spiegel ab, wobei der beste Effekt bei den kleinen Dosierungen zu beobachten war. Nach 240 Minuten war der Ausgangswert wieder erreicht.

30 Erläuterung zur Fig. : Es ist der zeitliche Verlauf des PTH-Spiegels nach i.v.-Buserelin-Gabe von 1 ng/kg (Kurve 1), 5 ng/kg (Kurve 2) und 50 ng/kg (Kurve 3) wiedergegeben. Kurve 4 zeigt den Verlauf bei Placebo-Gabe. Die Meßwerte sind jeweils mit Standardabweichung angegeben (n=5).

35

Beispiel 7

- Eine Frau (47 Jahre) mit unregelmäßiger Menstruation und starken krampfartigen Schmerzen während der Periode, sowie einem dauernden Druck auf der Blase und den typischen Hitzewallungen wurde mit 100 µg (intranasal) Gonadoliberin
- 5 zwei mal täglich (am Morgen und Abend) therapiert. Schon nach dem 1. Tag der Therapie waren die Beschwerden verschwunden. Die Patientin wurde etwa 9 Monate behandelt. Die Regelblutungen kamen in dieser Zeit sehr pünktlich.
- 10 Die Therapie wurde zwei mal für je zwei Wochen ausgesetzt. Dabei stellten sich jedoch oben genannte Beschwerden wieder ein, so daß nach dem beschriebenen Schema weiter therapiert wurde. Negative Nebenwirkungen des Gonadoliberins wurden nicht beobachtet.

15

Beispiel 8

- Eine Frau (35 Jahre) bekam nach operativer Entfernung des Uterus starke Migräne-Anfälle und Knochenschmerzen. Beide
- 20 Symptome konnten durch eine Behandlung mit 2 mal täglich 50 µg Gonadoliberin (intranasal) gebessert werden. Die Knochenschmerzen wurden auf ein Minimum reduziert und die Migräne-Anfälle verliefen kürzer, seltener und wesentlich schwächer als ohne Gonadoliberin-Therapie.

25

30

35

PATENTANSPRÜCHE:

HOE 84/F 089

1. Verwendung von Gonadoliberin oder dessen mindestens eben
so stark wirksamen Agonisten zur Herstellung einer phar-
mazeutischen Zubereitung zur Behandlung von klimakteri-
schen Beschwerden und pathologischen Zuständen mit zu
5 geringem Parathormonspiegel, gekennzeichnet durch einen
pharmakologisch wirksamen Gehalt an einer solchen Ver-
bindung in einem pharmazeutisch unbedenklichen Träger.
2. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Herstellung einer Zube-
10 reitung gemäß Anspruch 1 zur parenteralen Verabreichung,
gekennzeichnet durch einen Gehalt an 0,5 bis 5 µg
Gonadoliberin/Einzeldosis für einen normalgewichtigen
Erwachsenen oder die gleich stark wirksame Menge eines
Gonadoliberinagonisten.
- 15 3. Verwendung gemäß Anspruch 1 zur Herstellung einer Zube-
reitung zur Verabreichung auf die Schleimhaut, gekenn-
zeichnet durch einen Gehalt an 10 bis 200 µg
Gonadoliberin/Einzeldosis für einen normalgewichtigen
20 Erwachsenen oder die gleich stark wirksame Menge eines
Gonadoliberinagonisten.
4. Verwendung von Gonadoliberin oder dessen mindestens
eben so stark wirksamen Agonisten zur Behandlung kli-
25 makterischer Beschwerden und pathologischen Zuständen
mit zu geringem Parathormonspiegel.
5. Verfahren zur Behandlung klimakterischer Beschwerden
und pathologischen Zuständen mit zu geringem Parathor-
30 monspiegel durch Verabreichung einer pharmakologisch
wirksamen Menge Gonadoliberins oder dessen mindestens
eben so stark wirksamen Agonisten.

6. Verfahren zur Herstellung einer Zubereitung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß man Gonadoliberin oder dessen Analogon zusammen mit einem pharmazeutisch unbedenklichen Träger in eine geeignete Zubereitungsform bringt.
- 5
7. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4 bei der Behandlung der Osteoporose.
- 10 8. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4 bei der Behandlung der Niereninsuffizienz.

1/1

0158987

